

**Über Algen - Polysaccharide
insbesondere ihre Säurefunktion**

Luise Middendorf

1960



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555215_0076

Über Algen-Polysaccharide, insbesondere ihre Säurefunktion

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Luise Middendorf

aus

Recklinghausen

1960



1. Berichterstatter: Prof. Dr. Rudolf Springer
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Eugen Bamann

Tag der mündlichen Prüfung: **30. NOV. 1960**

Druck: Steinbauer u. Hagemann, München 2

Meinen lieben Eltern

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München in der Zeit von Januar 1958 bis Juli 1960 durchgeführt.

Die Anregung zu dieser Arbeit erhielt ich von

Herrn Professor Dr. Rudolf Springer,

der auch die praktische Durchführung der Untersuchungen leitete. Für die stete Anteilnahme und wertvolle Förderung, sowie seinen Rat bei allen auftretenden Schwierigkeiten und Fragen darf ich Herrn Professor Dr. Rudolf Springer an dieser Stelle herzlich danken.

Herrn Professor Dr. Eugen Bamann, Direktor des Institutes für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München, möchte ich für die stets fruchtbaren Anregungen und für die liebenswürdige Unterstützung meinen besonderen Dank aussprechen.

Dem Verband der Chemischen Industrie - Fonds der Chemischen Industrie - möchte ich für die grosszügige Förderung durch Gewährung eines Stipendiums herzlich danken.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. <u>Einleitung und Problemstellung</u>	1
B. <u>Allgemeiner Teil</u>	2
I. <u>Polysaccharide mit Schwefelsäureestergruppen als Säurefunktion</u>	2
Ia. Die Carrageensäuren und ihre Derivate	2
1. Die aciden Gruppen der Carrageensäuren	2
2. Salze der Carrageensäuren mit stickstoffhaltigen organi- schen Basen	4
a) Darstellung der Carrageenate organischer Basen	4
b) Analytisch-chemische Charakterisierung der Carra- geenate organischer Basen	7
c) Physikalische Eigenschaften der Carrageenate	10
3. Zur Kenntnis der Struktur der Carrageensäuren	17
a) Bestimmung des Molekulargewichtes der die Carrageen- säuren aufbauenden, eine SO_3H -Gruppe tragenden Ein- heiten	18
b) Zusammenhang zwischen Viskosität und Molekularge- wicht der Carrageenate	20
c) Diskussion der Formel für die unverzweigte und verzweigte Carrageensäure	22
4. Pharmakologische Testung der Carrageenate organischer stickstoffhaltiger Basen	25
Ib. Die Säure des Agars und ihre Derivate	28
II. <u>Polysaccharide mit Carboxylgruppen als Säurefunktion</u>	32
IIa. Die Alginsäure und ihre Derivate	32

	Seite
C. <u>Versuchsteil</u>	34
I. Beschreibung der Ausgangssubstanzen	34
II. Bereitung der Carrageenine	34
III. Darstellung der Säuren durch Ionenaustausch	35
IV. Analytisch-chemische und physikalisch-chemische Verfahren	35
V. Darstellung der Salze organischer Basen	37
Carrageenate organischer Basen	38
Agarsalze organischer Basen	45
Alginate organischer Basen	46
D. <u>Literaturverzeichnis</u>	47

A. Einleitung und Problemstellung

Der Aufbau der Algen-Inhaltsstoffe war lange Zeit ungeklärt. Erst seit etwa 20 Jahren haben sich vor allem englische Forscher (13, 15, 16, 17, 18, 25, 29, 34) um die Aufklärung der Struktur dieser Stoffe bemüht. Die Ergebnisse ihrer Arbeiten lehren, dass die Inhaltsstoffe Polysaccharide sind, die sich vornehmlich aus Galaktose, Glukose und Mannose aufbauen. Eine wichtige Rolle spielen dabei solche Zuckereinheiten, bei denen eine Hydroxylgruppe entweder mit Schwefelsäure verestert ist, wie etwa bei den Carrageenaten aus den Rodophyceen *Chondrus crispus*, *Gigartina mamilliosa* und *Gigartina stellata*, oder durch eine Carboxylgruppe ersetzt ist, wie bei den aus den Phaeophyceen gewonnenen Alginaten. Abweichend sind vorerst die Anschauungen (30, 33, 41), ob die Polysaccharide des Agars, eines Produktes aus verschiedenen Rodophyceen, acide Gruppen tragen oder nicht.

In der Pflanze liegen die Polysaccharid-Säuren in Form von Salzgemischen vor.

Das Studium des Gehaltes an aciden Gruppen in den schleimbildenden Substanzen der Algen (Carrageenine, Agar, Alginate) und deren Beschaffenheit, sowie Beobachtungen der Salzbildung, besonders mit organischen stickstoffhaltigen Basen, stehen im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen ermöglichen es, bisher noch offene Fragen über die Struktur der Algensäuren zu beantworten.

Ob physiologisch wirksame Verbindungen, beispielsweise Alkaloide, durch Bindung an die hochpolymeren Stoffe eine Änderung ihrer pharmakologischen Wirksamkeit erfahren, was von therapeutischem Interesse ist, wird für die untersuchten Stoffe geklärt.

B. Allgemeiner Teil

I. Polysaccharide mit Schwefelsäureestergruppen als Säurefunktion

Ia. Die Carrageensäuren und ihre Derivate

Aus Carrageen, das aus den Rotalgen *Chondrus crispus*, *Gigartina mamillosa* und *Gigartina stellata* besteht, können zwei verschiedene Komponenten gewonnen werden, die sich durch ihre Löslichkeit in kaltem bzw. heissem Wasser unterscheiden:

Bei Extraktion von Carrageen mit kaltem Wasser erhält man den "Kaltextrakt" oder das "Kaltcarrageenin", mit heissem Wasser den "Heissextrakt" oder das "Heisscarrageenin" (24, 25).

D. B. SMITH und W. H. COOK (38) berichten über λ - und K-Carrageenin. Das K-Carrageenin wird durch Fällern mit KCl-Lösung aus dem Totalextrakt gewonnen. Demgegenüber bleibt das λ -Carrageenin in Lösung. Das K-Carrageenin ist mit dem Heissextrakt identisch, während das λ -Carrageenin mit dem Kaltextrakt verglichen werden kann.

Im folgenden wird zwischen den Derivaten des Kaltcarrageenins und des Heisscarrageenins unterschieden werden.

Kaltcarrageenin stellt einen Schwefelsäureester mit unverzweigtem Polysaccharidanteil dar, während das Heisscarrageenin verzweigte Ketten besitzt. Im Naturprodukt liegen nicht die freien Esterschwefelsäuren vor, sondern deren Natrium-, Kalium-, Ammonium-, Calcium- und Magnesiumsalze. Dieses Salzgernisch bezeichnet man als "Carrageenin", bei den definierten Salzen spricht man von "Carrageenaten" (8, 13, 16, 17, 29, 34, 38).

1. Die aciden Gruppen der Carrageensäuren

Bei verschiedenen Carrageenproben, die auf Identität und Reinheit geprüft wurden, und die den Anforderungen des Deutschen Arzneibuches, 6. Ausgabe, entsprechen, werden Gesamtschwefelgehalte zwischen 6.70 und 6.98 % ermittelt (Tabelle 1).

Die Schwefelgehalte der durch Kalt- bzw. Heissextraktion aus den Carrageenen gewonnenen Kalt- und Heisscarrageenine liegen wesentlich höher als die des Ausgangsproduktes. Die aus drei verschiedenen Carrageenproben gewonnenen Kaltextrakte sind hinsichtlich ihres Gehaltes an Schwefel bemerkenswert ähnlich. Das gleiche gilt für drei verschiedene Proben von Heisscarrageenin, woraus gefolgert wird, dass Kalt- und Heisscarrageenin auch in ihren übrigen Bestandteilen etwa konstant zusammengesetzt sind. Das Kaltcarrageenin ist schwefelreicher als das Heisscarrageenin (Tabelle 1).

Ein Ausgangsmaterial mit 6.70 % Schwefel wird zu nachfolgenden Untersuchungen herangezogen.

Tabelle 1

Beispiele für Schwefelgehalte verschiedener Carrageenproben
sowie ihrer Kalt- und Heisscarrageenine

Probe	Gesamt-S %	S im Kaltcarrageenin %	S im Heisscarrageenin %
I	6.70	11.46	8.31
II	6.72	11.10	8.10
III	6.98	11.19	8.50

Aus den Carrageeninen werden durch Ionenaustausch mit Hilfe eines Kationenaustauschers Lösungen der freien Carrageensäuren dargestellt. (Versuchsordnung S. 35). Sie sind starke Säuren, 1 g Carrageensäure, die den Kaltcarrageeninen zu Grunde liegt, enthält 3.78, 1 g Carrageensäure, die aus dem Heisscarrageenin gewonnen wird, 2.82 Millimol bzw. Milligramm-Äquivalente Wasserstoffionen.

Die p_H -Werte äquimolarer Lösungen von Kalt- und Heisscarrageensäure sind annähernd gleich. So hat beispielsweise eine 0.002 (0.001) n-Kaltcarrageensäurelösung den p_H -Wert 2.76 (3.05) und eine 0.001 (0.002) n-Heisscarrageensäure den p_H -Wert 2.8 (3.01). Es folgt daraus, dass sich auch die Dissoziations-

konstanten nicht wesentlich von einander unterscheiden. Dieses Verhalten ist damit zu erklären, dass die Dissoziationskonstanten von den SO_3H -Gruppen und deren benachbarten Substituenten, sowie dem ähnlichen Molekülaufbau abhängen (s. S. 23 u. 24).

Unter der Voraussetzung, dass ein Grammatom Wasserstoffionen einem Grammatom Schwefel, vorliegend als $-\text{SO}_3\text{H}$, entspricht, ergibt sich rechnerisch bei dem Carrageenin des Kaltextraktes auf Grund der acidimetrischen Bestimmung der Säure ein Schwefelgehalt von 11,49 % (Beispiel II: 11,40 %). Gewichtsanalytisch (oxydativer Aufschluss, Fällung als BaSO_4) werden 11,46 % (Beispiel II: 11,52 %) Schwefel ermittelt. Beim Heisscarrageenin erhält man nach der massanalytischen Methode 8,25 % (Beispiel II: 8,14 %) Schwefel, gewichtsanalytisch 8,31 % (Beispiel II: 8,33 %). Zwischen den nach verschiedenen Verfahren festgestellten Schwefelgehalten besteht somit kein grundsätzlicher Unterschied.

Auf Grund dieser Ergebnisse kann mit Sicherheit ausgesagt werden, dass der hier ermittelte Schwefel als Bestandteil einer aciden Gruppe in der Bindungsform SO_3H vorliegt. Gleichzeitig kann die Anwesenheit anderer saurer Gruppen (wie COOH) im Molekül der Carrageensäuren ausgeschlossen werden. In den im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Schleimstoffen ist auch kein Stickstoff nachweisbar, der auf einen Gehalt an Aminosäuren hinweisen könnte. Es liegen demzufolge in den Carrageensäuren als saure Funktion lediglich Schwefelsäureestergruppen vor.

2. Salze der Carrageensäuren mit stickstoffhaltigen organischen Basen

a) Darstellung der Carrageenate organischer Basen

Die SO_3H -Gruppen der Carrageensäuren des Kalt- und Heisscarrageenins neigen zur Salzbildung. Sie geben als Protonendonatoren Wasserstoffionen ab, die von Protonenacceptoren, z. B. dem freien Elektronenpaar des Stickstoffs in

stickstoffhaltigen organischen Basen, aufgenommen werden (vgl. hierzu E. BAMANN und E. ULLMANN (2)).

Die Carrageensäuren sind im Gegensatz zu den carboxyltragenden Alginsäuren in freiem Zustand nicht haltbar, da sie sich infolge Eigenhydrolyse zersetzen. Bei Wasserentzug findet Verkohlung statt. Die Lösungen der Carrageensäuren werden deshalb jeweils durch Ionenaustauschreaktion aus den Carrageeninen hergestellt (Versuchsanordnung S. 35).

Bei der Darstellung der Derivate stickstoffhaltiger organischer Basen werden die hier erwähnten und in Abschnitt C. V. näher beschriebenen Methoden angewandt und hierbei folgende Beobachtungen gemacht:

Darstellung in homogener Phase:

Niedermolekulare wasserlösliche Amine (Tabelle 2) setzen sich mit den wässrigen Carrageensäurelösungen in äquivalenten Mengen um. Man erhält eine Carrageenatlösung, aus der man nach Reinigung das lösungsmittelfreie Carrageenat unter schonendem Trocknen im Vakuumtrockenschrank erhält. Die Salze sind beständig und bilden zunächst weiche, biegsame Filme, bei vollständigem Wasserentzug entstehen spröde Schuppen.

Alkoholische Lösungen von wasserunlöslichen Alkaloidbasen (Tabelle 2) lassen sich in gleicher Weise umsetzen. Es entstehen dabei zumeist wasserlösliche Verbindungen. Eine Ausnahme bilden die Chinin-Carrageenate. Sie sind in Wasser schwerlöslich und fallen in flockigen, dem Silberchlorid vergleichbaren Niederschlägen aus. Auf Grund dieser Schwerlöslichkeit kann man diese Salze direkt aus Chininhydrochlorid und Carrageeninen in wässriger Lösung erhalten, ohne den Umweg über das Chinin und die freien Carrageensäuren gehen zu müssen. Man erhält so ein sehr reines Produkt. - Die Eigenschaft, mit den Alkaloiden der Chininreihe unlösliche Verbindungen einzugehen, scheint allgemein bei Polysaccharidschwefelsäureestern vorhanden zu sein. In einem Patent (41) wird dieses Verhalten zur Reinigung und Abtrennung von verhältnismässig niedermolekularen, auf dem Wege der Synthese hergestellten Polysaccharidschwefelsäureestern, die als Anticoagulantien eingesetzt werden, verwandt.

Darstellung in heterogener Phase:

Da z. B. das Morphin in den erprobten Lösungsmitteln nur zu einem geringen Prozentsatz löslich ist (Wasser = 1 : 5 000, Äther = 1 : 4 300, abs. Äthanol = 1 : 300 (37)), ist hier eine Darstellung in der heterogenen Phase erforderlich. Die Morphin-Carrageenate des Kalt- und Heissextraktes sind durch Umsetzung der festen Base mit den wässrigen Carrageensäurelösungen unter Schütteln zugänglich. Die entstehenden Verbindungen sind in Wasser beschränkt löslich (s.S. 11). Die Umsetzung erfolgt hier nicht spontan. Die Reaktionsdauer, festgestellt an dem Verhältnis S : bas. N, beträgt unter gleichen Versuchsbedingungen bei der unverzweigten Carrageensäure 4 Stunden, bei der verzweigten 6 Stunden. Nach 4 Stunden ist beim Heisscarrageenat das Verhältnis von S : bas. N erst 1 : 0.835. Offensichtlich nimmt der Protonenacceptor (Morphin) unter den gewählten Bedingungen in dem grobdispersen System die den Carrageensäuren entstammenden Protonen langsam auf, um dabei von der nicht-ionisierten Form in die ionisierte überzugehen, deren Ausmass durch die schlechte Löslichkeit der Morphin-Carrageenate beschränkt ist.

Tabelle 2

Zusammenstellung der mit den Carrageensäuren umgesetzten Basen und ihre Lösungsmittel

Umgesetzte Base ⁺	Lösungsmittel
Triäthylamin	Wasser
Diäthanolamin	Wasser
p-Phenetidin	abs. Äthanol
Carbaminoylcholin	Wasser
Atropin	abs. Äthanol
Morphin	-
Codein	abs. Äthanol
Chinin	abs. Äthanol
Strychnin	Chloroform

⁺ Die Basen sind nach steigendem Molekulargewicht angeordnet. Dies gilt auch für alle folgenden Tabellen. Bei Salzen ergibt sich die Reihenfolge aus dem Molekulargewicht des Kations.

Die Strychnin-Carrageenate werden mittels wässriger Carrageensäurelösungen und der Lösung von Strychnin in Chloroform unter Rühren erhalten. Die Strychnin-Carrageenate fallen hierbei zum Unterschied von den entsprechenden Chininverbindungen in sehr feiner Verteilung aus. Die Möglichkeit, die Strychninsalze in gleicher Weise wie die ebenfalls schwerlöslichen Chinin-Carrageenate aus Strychininnitrat und Carrageenin in wässriger Lösung darzustellen, ist gegeben. Die Isolierung scheitert jedoch daran, dass das Reaktionsprodukt in Form einer schwerfiltrierbaren Suspension anfällt, die auch durch Zentrifugieren nicht getrennt werden kann.

b) Analytisch-chemische Charakterisierung der Carrageenate
organischer Basen

Vor der analytischen Charakterisierung werden die Carrageenate einem Reinigungsverfahren unterworfen (s.S. 37-46), um einen Überschuss an freier Base, der sich für die Umsetzung als zweckmässig erwiesen hat, zu entfernen.

Da es sich bei den Carrageenaten um hochmolekulare Substanzen mit nicht konstantem Molekulargewicht handelt - es werden Molekulargewichte von 100 000-500 000 angegeben (39) - stösst die analytische Charakterisierung in mancher Hinsicht auf Schwierigkeiten, weil das Molekulargewicht als Bezugseinheit fehlt.

Eine Möglichkeit der Charakterisierung besteht darin, die Schwefel- und Stickstoffgehalte der Salze zueinander in Beziehung zu setzen. Da die Carrageenine wie oben (s.S. 4) dargelegt, keinen Stickstoff enthalten und die Acidität der Carrageensäuren allein durch die SO_3H -Gruppen bestimmt wird, muss in den reinen Carrageenaten stickstoffhaltiger organischer Basen das Atomverhältnis $\text{S} : \text{bas. N} = 1$ sein. Bei den von uns dargestellten Verbindungen ist diese Bedingung weitgehend erfüllt (Tabelle 3 und 4).

Es liegen somit reine, definierte Salze vor.

Tabelle 3

Schwefel-Stickstoffbilanz von Salzen der
unverzweigten Carrageensäure

Salz	S-Gehalt %	N-Gehalt %	Verhältnis S : bas. N
Triäthylammonium- Carrageenat	9.38	4.62	1 : 1.065
Diäthanolammonium- "	9.23	4.13	1 : 1.024
p-Phenetidin- "	8.37	3.64	1 : 0.995
Carbaminoylcholin- "	8.32	7.48	1 : 1.029 ¹⁾
Atropin- "	6.23	2.78	1 : 1.022
Morphin- "	5.99	2.59	1 : 0.992
Codein- "	5.88	2.55	1 : 0.995
Chinin- "	5.22	2.56	1 : 0.995 ²⁾
Strychnin- "	5.54	2.41	1 : 0.995 ²⁾

Tabelle 4

Schwefel-Stickstoffbilanz von Salzen der
verzweigten Carrageensäure

Salz	S-Gehalt %	N-Gehalt %	Verhältnis S : bas. N
Triäthylammonium- Carrageenat	7.43	3.18	1 : 1.019
Diäthanolammonium- "	7.08	3.13	1 : 1.012
p-Phenetidin- "	6.25	2.71	1 : 0.991
Carbaminoylcholin- "	6.06	5.43	1 : 1.025 ¹⁾
Atropin- "	4.78	2.01	1 : 0.951
Morphin- "	4.84	2.02	1 : 0.954
Codein- "	4.69	2.01	1 : 0.978
Chinin- "	4.57	1.99	1 : 0.997 ²⁾
Strychnin- "	4.56	1.98	1 : 0.993 ²⁾

¹⁾ Das Verhältnis S : Gesamt-N ist doppelt so gross.

²⁾ Diese Werte geben nur den Gehalt an basischem Stickstoff wieder, da nur dieser durch den Aufschluss nach Kjeldahl erfasst wird.

Dieser Befund ist auch in folgender Hinsicht interessant:

Bei hochmolekularen Stoffen, wie bei den Carrageensäuren und Carrageenaten, besteht die Möglichkeit eines sorptiven Einschlusses von Base. Dadurch, dass bei den dargestellten Salzen das Verhältnis von S : bas. N innerhalb der analytischen Fehlergrenzen den Wert 1 hat, ist bewiesen, dass keine Einschlussverbindungen vorliegen.

Unter Berücksichtigung des Verhältnisses von Gesamtstickstoff zu basischem Stickstoff erhält man nach der Formel

$$\% \text{Base} = \frac{\% \text{ bas. N} \times \text{Molekulargewicht d. Base}}{14}$$

folgende Basengehalte der unverzweigten und verzweigten Carrageenate (Tabelle 5).

Tabelle 5

Der Basengehalt der unverzweigten und verzweigten Carrageenate

Base	Unverzweigtes Derivat %	Verzweigtes Derivat %
Triäthylamin	31.51	23.00
Diäthanolamin	31.00	23.51
p-Phenetidin	35.67	26.50
Carbaminoylcholin	39.29	28.50
Atropin	57.40	41.38
Morphin	52.80	41.02
Codein	54.50	42.85
Chinin	56.94	46.05
Strychnin	57.40	47.20

Der unterschiedliche Gehalt an Base ist mit dem Ansteigen des Molekulargewichtes vom Triäthylamin zum Strychnin beträchtlich. Das Verhältnis vom unverzweigten Carrageenat zum verzweigten Carrageenat beträgt im Durchschnitt 1 : 0.74.

c) Physikalische Eigenschaften der Carrageenate

1) Zersetzungspunkte

Die von uns dargestellten Carrageenate stickstoffhaltiger organischer Basen schmelzen nicht. Sie zeigen jedoch reproduzierbare Zersetzungspunkte, die zwischen 158 und 249°C liegen. Die Zersetzungerscheinungen bei den Salzen mit anorganischem Kation unterscheiden sich deutlich von denen der organischen Basen. Während die Metallsalze der Carrageensäuren zusammensintern und sofort verkohlen, färben sich die Salze organischer Basen zunächst gelb, dann braun bis dunkelbraun, sie blähen sich auf und werden schliesslich schwarz. Die beschriebenen Zersetzungerscheinungen bei anorganischen und organischen Carrageenaten spielen sich verhältnismässig rasch hintereinander innerhalb eines Temperaturbereiches von 1-2°C ab, so dass in beiden Fällen von Zersetzungs-"Punkten" gesprochen werden kann, wenn man eine bestimmte Phase des Vorganges, hier die Verkohlung, berücksichtigt.

Die Zersetzungspunkte der Carrageenate unterscheiden sich deutlich von den Schmelzpunkten der umgesetzten Basen, ausserdem sind die Zersetzungspunkte der verzweigten Carrageenate stets niedriger als die der unverzweigten (Tabelle 6). Eine strenge Gesetzmässigkeit hinsichtlich der Differenz wird jedoch nicht beobachtet. Immerhin erscheinen die Zersetzungspunkte signifikant genug, um sie zur Charakteristik der Carrageenate heranzuziehen.

2) Löslichkeit der Carrageenate

Wenn im folgenden von "Löslichkeit" gesprochen wird, so ist berücksichtigt, dass es sich bei den Lösungen der Carrageenate stickstoffhaltiger organischer Basen in Wasser und den Lösungsmittelgemischen wie Wasser-Alkohol und Wasser-Dioxan nicht um echte Lösungen handeln kann. Der Carrageenanteil liegt bereits in der Grössenordnung kolloider Teilchen. Die Molekulargewichte der hier in Frage stehenden Carrageenate sind beispielsweise höher

als die der meisten Proteine. Durch Aggregation der einzelnen Kohlenhydratketten kann die Teilchengrösse noch weiter erhöht werden. Die kolloidale Natur der Lösungen bedingt ihre hohen Viskositäten (s.S. 16).

Tabelle 6

Zersetzungspunkte anorganischer und organischer Carrageenate

Carrageenate folgender Basen:	Smp. d. Base	Unverzweigtes Derivat	Verzweigtes Derivat
Ammoniumhydroxyd	-	192°C	188°C
Natronlauge	-	234°C	222°C
Kalilauge	-	249°C	245°C
Triäthylamin	-	216°C	205°C
Diäthanolamin	-	210°C	200°C
p-Phenetidin	-	158°C	136°C
Carbaminoylcholin	-	238°C	231°C
Atropin	115°C	215°C	195°C
Morphin	230°C	246°C	228°C
Codein	155°C	233°C	229°C
Chinin	174°C	217°C	213°C
Strychnin	265°C	231°C	225°C

Obwohl die SO₃R-Gruppierung vielfach die Wasserlöslichkeit eines Stoffes bedingt und den Polysacchariden ein hydrophiles Verhalten eigen ist, bilden die Carrageensäuren mit stickstoffhaltigen organischen Basen zum Teil wasserlösliche, zum Teil wasserunlösliche Verbindungen. Hierin unterscheiden sie sich deutlich von den anorganischen Säuren wie Salzsäure und Salpetersäure, deren Derivate zumeist leicht löslich sind und daher bevorzugt therapeutisch angewandt werden.

Die Diäthanolammonium-, Triäthylammonium-, Carbaminoylcholin-, Alkali- und Ammonium-Carrageenate sind in Wasser leicht löslich⁺⁾ . Die Atropin-

⁺⁾ Der Grad der Löslichkeit ist nach der Definition des Deutschen Arzneibuchs, 6. Ausgabe, 3. Nachtrag 1959, angegeben.

und Codein-Carrageenate sind in Wasser löslich⁺⁾ , während die Morphin-Carrageenate erst beim Erwärmen auf etwa 50°C merklich in Lösung gehen. Man muss jedoch beachten, dass die Carrageenate thermolabile Substanzen sind, bei denen in der Hitze Depolymerisationen auftreten können. Die Temperatur von 50°C hat jedoch, wie R. BOLLIGER und K. MÜNZEL (10, 11) sowie A. GUTBIER und J. HUBER (23) für anorganische Derivate der Alginsäure und Carrageensäuren feststellten, keinen Einfluss, wenn sie nur für kurze Zeit einwirkt.

Bei den Verbindungen der Carrageensäuren mit den Alkaloidbasen Strychnin und Chinin reichen offensichtlich die erwähnten lösungsvermittelnden Eigenschaften nicht aus. Die genannten Carrageenate sind in Wasser praktisch unlöslich⁺⁾ . Es liegt ein bemerkenswerter Unterschied zwischen "Sulfat" und "Estersulfat" vor. Das Chininsulfat ist bei 15°C noch in 650 Teilen Wasser löslich, das Strychninsulfat löst sich in Wasser sogar im Verhältnis 1 : 35. Dass der Polysaccharidanteil den Salzen der Basen andere Eigenschaften verleihen kann, zeigt nachfolgende Betrachtung: Die Löslichkeit nimmt in folgender Reihenfolge ab:

$H \cdot O \cdot SO_2 \cdot O \cdot \text{Chinin}$	= Chininbisulfat, löslich in 10.9 Teilen Wasser.
$\text{Chinin} O \cdot SO_2 \cdot O \text{ Chinin}$	= Chininsulfat, löslich in 650 Teilen Wasser.
$\text{Polysaccharid} \cdot O \cdot SO_2 \cdot O \cdot \text{Chinin}$	= Chinin-Carrageenat, praktisch unlöslich in Wasser.

Die Derivate der verzweigten Carrageensäure lösen sich in Wasser bei Zimmertemperatur schwerer als die entsprechenden Verbindungen der geradkettigen Carrageensäure. Sie unterscheiden sich aber in ihrer Löslichkeit nicht grundsätzlich von den Kaltcarrageenaten (Tabelle 7).

⁺⁾ s.S. 11

Tabelle 7

Löslichkeit⁺⁾ der Carrageenate in Wasser

Salz	Unverzweigtes Derivat	Verzweigtes Derivat
Natrium- Carrageenat	ll	l
Kalium- "	ll	l
Ammonium- "	ll	l
Triäthylammonium- "	ll	l
Diäthanolammonium- "	ll	l
p-Phenetidin- "	l	wl
Carbaminoylcholin- "	ll	l
Atropin- "	l	l
Morphin- ++)	l	l
Codein- "	l	l
Chinin- "	nl	nl
Strychnin- "	nl	nl

Dieser Befund ist insofern bemerkenswert, als das Heisscarrageenin bei der Extraktion des pflanzlichen Materials mit kaltem Wasser ungelöst bleibt und erst unter Anwendung von höherer Temperatur gewonnen werden kann. Eine Deutung für das unterschiedliche Verhalten des natürlichen Gemisches von Salzen der Heisscarrageensäure (Heisscarrageenin) und dem der Verbindungen mit einheitlichem anorganischem oder organischem Kation, kann vorerst nicht gegeben werden.

Die Lösungen der Salze der unverzweigten und verzweigten Carrageenate unterscheiden sich in ihrem Verhalten gegenüber 1molarer KCl-Lösung: Während sich die Lösungen der geradkettigen Carrageenate bei KCl-Zusatz nicht sichtbar verändern, tritt bei den entsprechenden Verbindungen der Heisscarrageensäure eine gallertige Ausflockung ein. Dieses Verhalten weist auf die Identität des Heisscarrageenins mit der von D. B. SMITH und W. H. COOK (38) als K-Carrageenin bezeichnete Fraktion hin (vgl. S. 2).

^{+) s. S. 11}

⁺⁺⁾ Löslich unter Erwärmen auf 50°C.

Das vorherige Befeuchten der Carrageenate mit Glycerin, wie es R. BOLLIGER und K. MÜNZEL (10) für die Alginat empfehlen, hat keinen feststellbaren Einfluss auf die Löslichkeit.

In einer Reihe organischer Lösungsmittel wie Äther, Chloroform, Benzol, Aceton, Dioxan, Tetrahydrofuran, Amylalkohol, Isopropanol und Äthylalkohol sind die dargestellten Carrageenate praktisch unlöslich. Interessant ist der Befund, dass die wässrigen Lösungen der Carrageenate organischer Basen hohe Zusätze - bis zu 90 % - an wassermischbaren Lösungsmitteln vertragen, ohne auszufallen. Man kann demzufolge bei ihrer Herstellung die Carrageenate organischer Basen nicht mehr durch Alkoholzusatz isolieren. Mit diesem Verhalten unterscheiden sie sich ebenfalls stark von den entsprechenden Metallverbindungen, sowohl den Carrageeninen als auch den Carrageenaten. Carrageenine werden als Ausgangsmaterial durch Alkoholfällung aus wässrigen Extrakten dargestellt.

3) Papierelektrophoretische Messungen an Carrageenaten

Die Carrageeananteile der unverzweigten und verzweigten Carrageenate wandern beim Anlegen einer Spannung zur Anode (Versuchsanordnung S. 36). Die Wanderungsgeschwindigkeit des unverzweigten Carrageeanatrestes ist grösser als die des verzweigten. Zur Sichtbarmachung des Carrageeananteils bewährt sich auch hier die bereits von W. AWE (1) bei der Untersuchung von Heparinen angewandte Methode des Anfärbens mit Toluidinblau. Unter den Versuchsbedingungen entfernt sich der unverzweigte Carrageeananteil in 7 Stunden 5 cm vom Startpunkt, während der verzweigte in der gleichen Zeit 4,5 cm zurücklegt. Der Basenanteil ist hierbei ohne Einfluss. Die Unterschiede des zurückgelegten Weges sind bei den Kalt- und Heisscarrageenaten gering. Ausserdem sind die anfärbbaren Zonen auseinandergezogen, so dass die Papierelektrophorese nicht mit genügender Genauigkeit zur Charakterisierung dieser Verbindungen herangezogen werden kann.

4) Messung der Oberflächenspannung wässriger Carrageenatlösungen

In den Carrageenaten organischer Basen ist der Anionenanteil ausserordentlich hydrophil. Man könnte erwarten, dass in Verbindung mit einem entsprechend hydrophoben Partner Substanzen vorliegen, die die Oberflächenspannung des Wassers herabzusetzen vermögen. Ein Vergleich mit den Abkömmlingen des Sorbitans, Polyäthylenglykols oder mit den Triäthanolaminseifen wäre naheliegend. Die Ergebnisse der stalagmometrischen Messungen (Versuchsanordnung S. 37) an den dargestellten Carrageenaten zeigen jedoch, dass keine Netzerwirkung eintritt (Tabelle 8). Das hydrophil-lipophile Gleichgewicht liegt zu sehr auf der Seite des Kohlenhydratanteils, so dass bei Paarung mit den hier angewandten stickstoffhaltigen organischen Basen das Molekül in dieser Hinsicht nicht ausbalanciert ist.

Tabelle 8

Stalagmometrische Messungen an 0.3proz. wässrigen Carrageenatlösungen

Salz	Tropfzahlen	
	Unverzweigtes Derivat	Verzweigtes Derivat
Natrium- Carrageenat	78.0	77.5
Kalium- "	77.8	77.5
Diäthanolammonium- "	83.5	84.0
p-Phenetidin- "	83.8	86.5
Atropin- "	81.0	84.3
Morphin- "	82.0	82.3
Codein- "	80.3	81.0

Die Tropfzahl beträgt für Wasser bei 20°C 87.2.

5) Die Viskosität wässriger Carrageenatlösungen

H. G. BUNGENBERG DE JONG und C. R. MASSON (14) stellten fest, dass die wässrigen Lösungen der Carrageenine dem Newtonschen Gesetz nicht gehorchen. Es handelt sich also um strukturviskose Stoffe, d.h. die Viskosität ist ausser von Temperatur und Konzentration noch von der Schubspannung bzw. Fließgeschwindigkeit abhängig. Wie R. BOLLIGER und K. MÜNZEL (10, 11) bei Alginaten - die ebenfalls strukturviskos sind - zeigen, nimmt die Viskosität mit steigender Fließgeschwindigkeit bzw. Schubspannung immer mehr ab, bis sich ein Grenzwert einstellt, der sich bei weiterer Zunahme der Fließgeschwindigkeit bzw. Schubspannung nicht mehr ändert. Sie erklären diesen Sachverhalt wie folgt: Die in der Lösung vorhandenen Fadenmoleküle sind im Ruhezustand in vollständiger Unordnung. Sobald laminare Strömung einsetzt, ordnen sich die Moleküle, indem sie sich immer mehr nach der Fließrichtung hin ausrichten, wodurch die Viskosität abnimmt. Den Grenzwert der Viskosität erhält man, wenn alle Moleküle parallel zur Fließrichtung eingestellt sind.

Bei den nachfolgenden Viskositätsmessungen an wässrigen Carrageenatlösungen (Versuchsanordnung s.S. 36) wird der Einfluss der Strukturviskosität durch Konstanthalten der Fließgeschwindigkeit bzw. Schubspannung ausgeschaltet. Um für alle Carrageenatlösungen vergleichbare Werte zu erhalten, erfolgt die Bestimmung der Viskosität bei stets gleicher Konzentration (1proz. wässrige Lösung) und gleicher Temperatur (20°C).

Beim Studium des Einflusses des Kationenanteils der Schwefelsäureestersalze auf die Viskosität ist zu beobachten, dass die Alkali- und Ammonium-Carrageenate der unverzweigten und verzweigten Carrageensäure eine höhere Viskosität aufweisen als die entsprechenden Carrageenate organischer stickstoffhaltiger Basen.

Übereinstimmend sind die Lösungen der verzweigten Carrageenate höher viskos als die der unverzweigten. Hierfür sind zwei Gründe erkennbar: 1. Der strukturelle Unterschied - man beobachtet vergleichsweise auch eine niedrigere Viskosität bei der linear aufgebauten Amylose als beim verzweigt-kettigen Amylopektin. - 2. Der Carrageenanteil, der z.B. im Atropin-Heisscarrageenat 58 % und im Atropin-Kaltcarrageenat 48 % beträgt.

Weiterhin ist die Beobachtung interessant, dass die Viskosität der wässrigen Lösungen der unverzweigten und verzweigten Carrageenate stickstoffhaltiger organischer Basen mit steigendem Molekulargewicht der Basen abfallen (Tabelle 9 und Abb. 1 und 2). Dieses Ergebnis ist insofern bemerkenswert, als mit zunehmender Molekülgrösse (grösseres Molekulargewicht der Base) auch eine höhere Viskosität erwartet werden sollte. Das auf den ersten Blick "anormale" Verhalten der Carrageenatlösungen ist auf unterschiedliche molare Konzentrationen zurückzuführen und wird in Abschnitt d)2) ausführlich diskutiert.

Tabelle 9

Die Viskosität 1proz. wässriger Carrageenatlösungen

Salz	Viskosität in cP	
	Unverzweigtes Derivat	Verzweigtes Derivat
Ammonium- Carrageenat	18.05	20.10
Natrium- "	17.60	19.80
Kalium- "	16.50	19.43
Triäthylammonium- "	15.50	17.10
Diäthanolammonium- "	15.30	16.65
p-Phenetidin- "	12.39	13.20
Carbaminoylcholin- "	10.35	11.30
Atropin- "	8.20	9.81
Codein- "	7.66	9.40

3. Zur Kenntnis der Struktur der Carrageensäuren

Auf S. ist ausgeführt worden, dass die aus Carrageen durch Kalt- und Heiss-extraktion gewonnenen Carrageenine Salze saurer Polysaccharidschwefelsäure-ester darstellen.

Über die Natur, der die Polysaccharidketten aufbauenden Monosaccharideinheiten, sowie die Art ihrer Verknüpfung liegen bereits zahlreiche Arbeiten (13, 16, 17, 18, 24, 25, 29, 34, 38) vor. Mit Hilfe der klassischen Methoden der Zuckerchemie wie Osazonbildung, Methylierung, Acetylierung etc., sowie auf papierchromatographischem Wege konnte sichergestellt werden, dass die

Carrageenine hauptsächlich aus d-Galaktoseeinheiten bestehen, die in α -, 1.3-Stellung glykosidisch miteinander verknüpft sind. Während im Kaltcarrageenin gerade Ketten vorliegen, treten im Heisscarrageenin Verzweigungen auf. Ausserdem enthält das Heisscarrageenin im Unterschied zum Kaltcarrageenin noch Anhydrogalaktose, Glukose, Fructose und Xylose.

Während somit über das Polysaccharidgerüst der Carrageenine weitgehend Klarheit herrscht, ist die Frage des Zahlenverhältnisses der SO_3H -Gruppen zu den Monosaccharideinheiten noch nicht befriedigend beantwortet worden.

Die auf Grund der Beobachtungen der Reaktionen der Carrageensäuren mit stickstoffhaltigen organischen Basen gewonnenen Einblicke in die stöchiometrischen Verhältnisse erlauben es, das Molekulargewicht der kleinsten, eine SO_3H -Gruppe tragenden Einheit der Carrageensäuren zu bestimmen. Aus diesem Molekulargewicht wird das Zahlenverhältnis von SO_3H -Gruppen zu Monosaccharideinheiten wie nachfolgend beschrieben ermittelt.

a) Bestimmung des Molekulargewichtes der die Carrageensäuren aufbauenden, eine SO_3H -Gruppe tragenden Einheiten

Das Molekulargewicht M_C der kleinsten, eine SO_3H -Gruppe tragenden Einheit der Carrageensäuren lässt sich auf Grund der in Abschnitt Bla, 2 b dargelegten Beobachtungen nach einer einfachen Formel berechnen, die sich aus folgenden Überlegungen ergibt:

Bezeichnet man das Molekulargewicht der Base mit M_B und den Basenanteil der Carrageenate in Prozent mit Z, dann enthalten 100 g Carrageenat Z g Base und $100 - Z$ g Carrageensäure. Rechnet man die Gramm-Mengen in Mol-Mengen um, so erhält man

$$\frac{Z}{M_B} \text{ Mol Base und } \frac{100 - Z}{M_C} \text{ Mol Carrageensäure.}$$

Da in den Carrageenaten Base und Carrageensäure im Molverhältnis 1 : 1 vorhanden sind, kann man die beiden Ausdrücke gleichsetzen:

$$\frac{Z}{M_B} = \frac{100 - Z}{M_C}$$

Für M_C erhält man demzufolge:

$$M_C = M_B \frac{100 - Z}{Z}.$$

Die Mittelwerte der auf Grund dieser von uns aufgestellten Formel sich ergebenden Molgewichte (Tabelle 10) betragen für die Kaltcarrageensäure ($\bar{M}_{CK}$) gleich 238, für die Heisscarrageensäure ($\bar{M}_{CH}$) gleich 355.

Tabelle 10

Molekulargewichte der die Carrageensäuren aufbauenden,
eine SO_3H -Gruppe tragenden Einheiten

Zur Berechnung von Z zugrunde gelegte Salze	M_{CK}	M_{CH}
Triäthylammonium- Carrageenat	220	338
Diäthanolammonium- "	223	342
p-Phenetidin- "	247	380
Carbaminoylcholin- "	227	369
Atropin- "	214	409
Morphin- "	255	410
Codein- "	250	399
Chinin- "	245	380
Strychnin- "	248	374

Abgesehen vom Morphin- und Atropin-Carrageenat sind die Schwankungen um den Mittelwert $\bar{M}_{CK}$ gering.

Bei der verzweigten Carrageensäure ist die Streuung der erhaltenen Molekulargewichte grösser.

b) Zusammenhang zwischen Viskosität und Molekulargewicht
der Carrageenate

Die Viskositäten der Carrageenate nehmen mit steigendem Molekulargewicht der Basen ab (s. S. 17). Diese Lösungen enthalten zwar gleiche Mengen der Substanzen (1 g/100 ml), jedoch nicht die gleiche Anzahl Teilchen. Auf Grund der Kenntnis der Molekulargewichte der kleinsten, die unverzweigte und verzweigte Carrageensäure aufbauenden Einheiten, ist die Möglichkeit gegeben, die Viskositäten "äquimolarer" Carrageenatlösungen zu untersuchen. Bezugseinheit ist die Summe der oben (s. S. 19) ermittelten Molgewichte $\bar{M}_{CK}$ bzw. $\bar{M}_{CH}$ und das Molekulargewicht der Base.

Die Viskositäten der Lösungen der unverzweigten und verzweigten Carrageenate sind offensichtlich von dem Molekulargewicht und der Struktur der Basen unabhängig, "molare" Lösungen weisen annähernd gleiche Viskositäten auf. Sie werden vom Carrageenanteil bestimmt (Tabelle 11 und Abb. 1 und 2). Für die Viskosität molarer Lösungen geradkettiger Carrageenate beträgt der Durchschnittswert $\bar{\eta}_{I; 10.538} = 7.2$ cP. Bei den höher viskosen verzweigten Carrageenaten erhält man eine Viskosität von $\bar{\eta}_{I; 10.538} = 10.18$ cP. Diese weitgehende Übereinstimmung wird als weiterer Beweis der Richtigkeit der ermittelten Molekulargewichte angesehen.

Tabelle 11

Die Viskosität 0.017^{+) molarer Carrageenatlösungen}

Salze		Viskosität in cP	
		Unverzweigtes Derivat	Verzweigtes Derivat
Ammonium-	Carrageenat	6.75	8.22
Natrium-	"	7.62	11.13
Kalium-	"	7.95	10.65
Triäthylammonium-	"	7.21	11.44
Diäthanolammonium-	"	6.93	11.55
p-Phenetidin-	"	6.52	8.53
Carbaminoylcholin-	"	6.75	10.31
Atropin-	"	6.72	9.12
Codein-	"	6.91	9.39

^{+) Die willkürliche Konzentration von 0,017 molar ergab sich durch Verdünnen der Prüflösungen bis zu einem optimalen Messbereich.}

Viskosität wässriger Carrageenatlösungen in Abhängigkeit
vom Molekulargewicht der Base

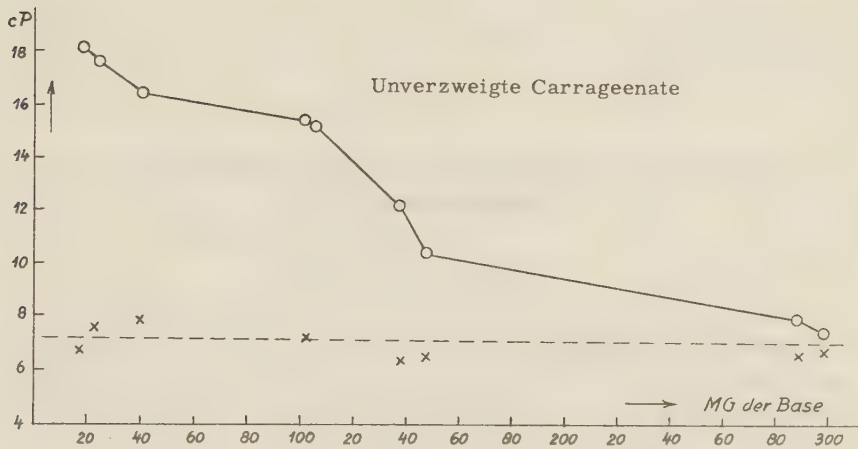


Abbildung 1

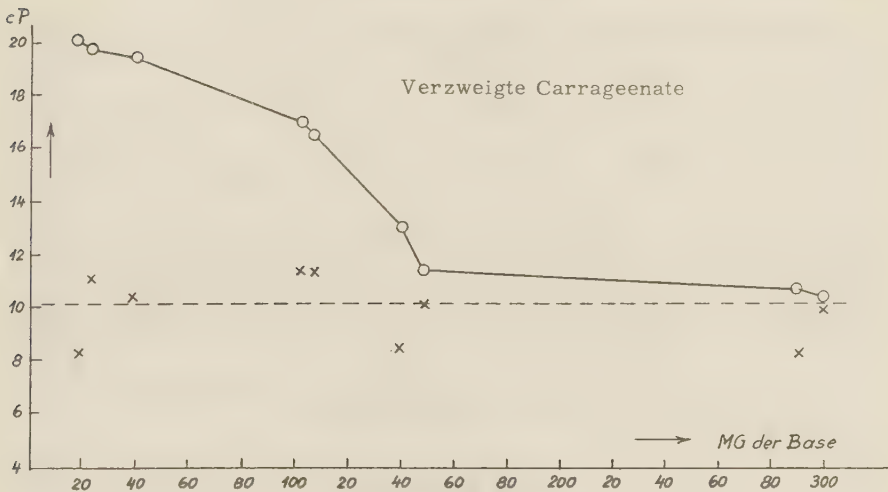


Abbildung 2

— 1proz. Lösung
--- 0.017 molare Lösung

Die Streuung der Viskositäten der Heisscarrageenate ist in Hinblick auf die Tatsache, dass es sich bei den verzweigten Carrageenaten um, wie schon erwähnt, keine exakt definierten Verbindungen handelt und dass ihre Zusammensetzung in den einzelnen Chargen offensichtlich Differenzen aufweisen, doch nicht allzu gross.

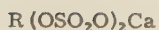
c) Diskussion der Formel für die unverzweigte und
verzweigte Carrageensäure

α) Die Formel für die unverzweigte Carrageensäure.

Das hier ermittelte Molekulargewicht von 238 für die kleinste, eine SO_3H -Gruppe tragenden Einheit der unverzweigten Carrageensäure steht in guter Übereinstimmung (Differenz 1.66 %) mit dem Molekulargewicht von 242, das sich unter folgenden Voraussetzungen ergibt: Die Monosaccharideinheit ist die Galaktose, an jeder Galaktoseeinheit sitzt eine SO_3H -Gruppe.

In diesem Zusammenhang ist wiederum der Schwefelgehalt der Carrageenine, der natürlich vorkommenden Carrageenatgemische, von Interesse. Es stellt eine Grundlage für die Bestätigung der Richtigkeit obiger Betrachtungen dar: Aus der anteilmässigen Verteilung der Kationen, wie sie R. SPRINGER und K. CH. BERINGER (40) ermittelten, resultiert ein durchschnittliches Atomgewicht für den Kationenanteil der Carrageenine von 35. Dem Molekulargewicht der unverzweigten Carrageenine, berechnet aus der Summe des Molekulargewichtes der unverzweigten Carrageensäure abzüglich Wasserstoff, 241 und 35 gleich 271, entspricht ein Schwefelgehalt von 11.62 %, der mit dem analytischen Befund, 11.46 %, gut übereinstimmt. Jede Monosaccharideinheit trägt demzufolge im Kaltcarrageenin eine SO_3H -Gruppe.

Mit diesem Ergebnis ist eindeutig die Frage geklärt, die bereits F. C. HARWOOD (26) erörterte. Er stellte der Formel, die P. HAAS (24) mitteilte (I), eine andere entgegen (II) und erwähnt, dass es unmöglich ist, ohne experimentelle Arbeiten zwischen diesen beiden Formeln zu unterscheiden.



(I)

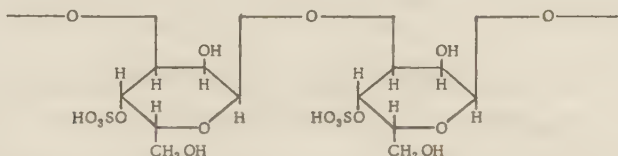


(II)

Obwohl diese experimentellen Arbeiten ausstanden, wird in der neuzeitlichen Literatur bereits allgemein die Formel für die unverzweigte Carrageensäure derart dargestellt, dass auf eine Galaktoseeinheit eine SO_3H -Gruppe entfällt.

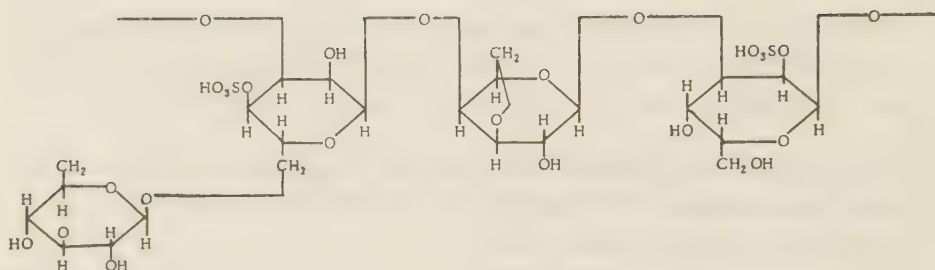
Es soll schliesslich noch erörtert werden, ob in der Polysaccharidkette sich neben unveresterten solche Einheiten befinden, die im Sinne der Darlegung von HAAS zwei SO_3H -Gruppen tragen.

Unsere Befunde lassen aber im Zusammenhang mit den Betrachtungen von E. T. DEWAR und E. G. V. PERCIVAL (17) den Schluss zu, dass jede Monosaccharideinheit eine acide Gruppe tragen muss.



β) Die Formel für die verzweigte Carrageensäure

Zur Frage der Struktur des Heisscarrageenins bzw. K-Carrageenins liegen Untersuchungsergebnisse von S. T. BAYLEY (5) vor. Der Autor kommt auf Grund von Infrarotmessungen zu der Ansicht, dass eine Faserperiode der Heisscarrageensäure aus zwei mit Schwefelsäure veresterten Galaktose-resten und einer Anhydrogalaktoseeinheit besteht.



Die Bestandteile Glukose, Fruktose und Xylose sind hierbei nicht berücksichtigt. Die BAYLEYsche Vorstellung vom Aufbau der verzweigten Carrageensäure wird den wirklichen Verhältnissen nur annähernd gerecht. Man muss vermuten, dass diese Säure wesentlich komplizierter aufgebaut ist, vorausgesetzt, dass hier überhaupt eine einheitliche Verbindung vorliegt.

Während bei der unverzweigten Carrageensäure auf 238 Gewichtsteile 1 Gewichtsteil saurer Wasserstoff kommt, entfällt bei der verzweigten Carrageensäure auf durchschnittlich 355 Teile die gleiche Menge aciden Wasserstoffes (s. Tabelle 10). - Für eine "Faserperiode" der Kette (ohne Berücksichtigung der Verzweigungen) bestehend aus zwei Anhydrogalaktosen und vier Galaktosen besetzt mit vier Schwefelsäureresten, ergibt sich ein Molekulargewicht von 1380. Es treffen also auf ein Grammatom aciden Wasserstoffes 345 Gewichtsteile. Experimenteller Befund und Ergebnis der Berechnung differieren um etwa 3 %. In dem im Rahmen dieser Untersuchungen hergestellten, weitgehend gereinigten Heisscarrageenin liegt demzufolge ein Produkt vor, bei dem durchschnittlich von drei Monosaccharideinheiten zwei verestert sind.

Auch im Falle des Heisscarrageenins zeigt sich eine gute Übereinstimmung zwischen den experimentell und rechnerisch ermittelten Schwefelwerten. Es stehen sich die Zahlen 8.46 % (berechnet unter zu Grundelegung eines mittleren Molekulargewichtes des Carrageenins) und 8.31 % gegenüber.

Nach der Formel von BAYLEY, bei der auf eine sechsgliedrige Kette mit vier SO_3H -Gruppen ein verzweigter schwefelfreier Rest kommt, entfällt 1 Grammatom aciden Wasserstoffes auf 389 Gewichtsteile. Die eigenen Befunde sind damit nicht in Einklang zu bringen. Entweder müssen sehr selten Verzweigungen vorkommen, oder die Seitenketten müssen entgegen der Annahme von BAYLEY Schwefelsäuregruppen tragen. - Voraussetzung für alle diese Betrachtungen ist, dass Glukose, Fruktose und Xylose, die auch wir als Bestandteil unseres Heisscarrageenins auf papierchromatographischem Wege feststellten, lediglich, wie D.B. SMITH, A.N. O'NEILL und A.S. PERLIN (39) annehmen, als "Verunreinigungen" anzusehen sind.

4. Pharmakologische Testung der Carrageenate organischer stickstoffhaltiger Basen⁺⁾

Nach der heute anerkannten Hypothese der chemischen Arzneiwirkung muss der Wirkstoff aus der Zellumgebung an die Zelloberfläche, in gewissen Fällen ins Zellinnere gelangen, um dort auf die spezifischen Rezeptoren zu treffen. - Um resorbiert zu werden und diffundieren zu können, muss jede Substanz eine Mindestlöslichkeit in Wasser besitzen. Nach J. BÜCHI (12) sind die meisten Arzneistoffe Säuren, Basen oder Salze. Sie sind mehr oder weniger stark dissoziiert und unterliegen z. T. der Hydrolyse.

Die Carrageenate der Alkaloidbasen, besonders die hier pharmakologisch ausgetesteten, erfüllen weitgehend diese Voraussetzungen. - Zudem scheint in diesem Zusammenhang folgende Betrachtung von Wichtigkeit zu sein:

⁺⁾ Für die Durchführung pharmakologischer Untersuchungen sind wir Herrn Professor Dr. Dr. A. W. FORST, Direktor des Pharmakologischen Institutes der Universität München, und E. MERCK, Chemische Fabrik, Darmstadt, sowie den Luitpoldwerken, München, dankbar.

Zellmembran und Zellinhalt, aber auch die die Zelle umgebende Flüssigkeit, sieht BÜCHI als ein äusserst kompliziertes mehrphasiges System an, welches vorwiegend kolloiddispers vorliegt. Auch die Carrageenate organischer Basen, die sich, wie bereits dargelegt, in ihrem physikalischen Verhalten stark von den entsprechenden Derivaten anorganischer Säuren unterscheiden, ergeben auf Grund ihrer Molekülgrösse kolloiddisperse Lösungen. Da in dem mehrphasigen System (bestehend aus Zellmembran, Zellinhalt und umgebende Flüssigkeit) die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Arzneistoffe seine Wirkung und Resorption beeinflussen sollen, werden die hochmolekularen Carrageenate pharmakologisch ausgetestet und mit den entsprechenden Sulfaten und Chloriden verglichen.

Die Carrageenate enthalten in der Gewichtseinheit auf Grund der Grösse des Polysaccharidschwefelsäureanteils weit weniger Base und somit z. B. im Falle der Alkaloidsalze weniger pharmakologisch wirksame Substanz als die entsprechenden Chloride und Sulfate. So beträgt der Atropinanteil im Kaltcarrageenat 58 %, im Heisscarrageenat sogar nur 42 %, gegenüber 83 % im Sulfat.

Unter Berücksichtigung des Atropingehaltes ist die Wirkung der beiden Atropin-Carrageenate nicht so stark wie die des Atropinsulfates. Bei subcutaner Injection ist die Pupillenerweiterung bei der Maus je nach Dosierung - 0.05 oder 0.1 γ /g - um 20 bzw. 40 % schwächer.

Das unverzweigte Atropin-Carrageenat unterscheidet sich nicht feststellbar von dem verzweigten Derivat in der Herabsetzung der Atropinwirkung, wenn die Pupillenerweiterung bei der Maus beobachtet wird. Hinsichtlich des cholinolytischen Effektes, geprüft am isolierten Meerschweinchendünndarm nach der Methode von MAGNUS-KEHRER, erweist sich das verzweigte Carrageenat nur 1.1mal, das unverzweigte jedoch 1.4mal schwächer wirksam als das Atropinsulfat. Die Wirkungen sind demzufolge etwa 9 % bzw. 28 % geringer.

Die Carbaminoylcholin-Derivate der unverzweigten und verzweigten Carra-geensäure werden mit dem entsprechenden Chlorid verglichen. Hier zeigt sich besonders stark der Einfluss des Polysaccharidschwefelsäureanteils im

Sinne der Wirkungsabnahme, sie beträgt 48 %. Carbaminoylcholin-Kaltcarrageenat und Carbaminoylcholin-Heisscarrageenat sind in guter Übereinstimmung rund 1.9 mal (1.87 bzw. 1.90) schwächer darmkontrahierend als das Carbaminoylcholinchlorid. - Hinsichtlich der Auswaschbarkeit ist zwischen den Prüf- und Vergleichsstoffen kein Unterschied erkennbar.

Der pharmakologische Effekt, verbunden damit die Toxizität, sind offensichtlich bei der Bindung an die Carrageensäuren herabgesetzt. Es ist im vorliegenden Fall keineswegs so, dass, wenn dem mehrphasigen, vorwiegend kolloiddispersen System, Zellmembran und Zellinhalt, ein pharmakologisch wirksamer Stoff, der an einen kolloidalen Partner gebunden ist, angeboten wird, die Resorption begünstigt oder die Wirkung gesteigert wird.

Einige Wirkstoffe können nach BÜCHI auf Grund einer deutlichen Oberflächenaktivität den physikalisch-chemischen Zustand der Zelloberfläche und der Zellmembran verändern und somit in das Zellinnere eindringen. Man hätte erwarten können, dass hydrophile Substanzen, wie es die Carrageensäuren sind, die Resorption erleichtern. Die Carbaminoylcholin- und Atropin-Carrageenate sind jedoch, wie schon die Messungen der Oberflächenaktivität lehrten, oberflächeninaktiv, so dass der Transport zu den Rezeptoren im Zellinneren durch den Carrageenanteil nicht begünstigt wird.

Die heparinoide Wirkung der Carrageenine ist von einer Reihe von Autoren beschrieben worden (7, 20, 21, 22). Beim Vergleich der Wirkungen des Kalt- und Heisscarrageenins mit der des Heparins beobachtet man, dass die Carrageenine wesentlich weniger wirksam sind. Setzt man für die gerinnungshemmende Wirkung des Heparins den Wert 100, so ergibt das von uns hergestellte Kaltcarrageenin den Wert 60 und das entsprechende Heisscarrageenin den Wert 30.

Als Anticoagulantien finden die Carrageenine praktisch keine Anwendung. Neben ihrer schwachen Wirkung zeigen sie störende Begleiterscheinungen wie J. C. HOUCK, R. K. MORRIS und E. J. LAZARO nach intravenöser Injection feststellten(27). Zudem beobachtet man eine Stimulation des Bindegewebswachstums (21).

Die blutgerinnungshemmende Wirkung der Carrageenate schränkt natürlich ihre Verwendung bei der intravenösen Applikation ein. Oral verabfolgt sind die gleichen Carrageenine und Metallcarrageenate jedoch in grossen Dosen verträglich.

Ib. Die Säure des Agars^{+) und ihre Derivate}

Das wohl am längsten bekannte Produkt aus Rodophyceen ist Agar, der nach Angaben von O. J. SCHMIDT (36) aus 51 verschiedenen Rotalgen hergestellt wird.

Nach C. K. TSENG (43) ist "Agar ein Schwefelsäureester eines linearen Galaktans, der in kaltem Wasser unlöslich aber löslich in heissem Wasser ist". W. G. JONES und M. S. PEAT (30) geben für das Agarmolekül eine Formel an, nach der es aus einer "Kette von neun β 1.3 verbundenen d-Galaktopyranose-Einheiten besteht, die durch 1.4'-Bindung noch ein Molekül l-Galaktose einschliessen, das seinerseits wieder am C₆ mit Schwefelsäure verestert ist". Aus dieser Formel errechnen wir einen Schwefelgehalt von 1.8 %. In der Literatur werden jedoch Schwefelwerte von 0.5 bis 1.5 % beschrieben. - Andere Autoren vermuten, dass auf 53 Monosaccharideinheiten eine SO₃H-Gruppe entfällt (4). H. C. SELBY (42) vertritt sogar die Ansicht, dass das Agarmolekül schwefelfrei ist und dass Schwefel nur als Verunreinigung auftritt.

Bei Agarproben die im Rahmen vorliegender Arbeit untersucht wurden, schwanken die Schwefelwerte, Tabelle 12 zeigt einige Beispiele, zwischen 0.48 u. 4.57 %.

Tabelle 12

Beispiele für die Schwefelgehalte verschiedener Agarproben

Probe	Schwefelgehalt %
I	4.57
II	0.48
III	1.02
IV	1.26

Wir erachten es, besonders hinsichtlich des Zahlenverhältnisses saure Funktion zu Monosaccharideinheit nicht für angängig, eine einheitliche Formel für ein Produkt aufzustellen, das aus so vielen Algen gewonnen werden kann. Dass diese Rohstoffe ausserordentlich unterschiedlich sind, lehren folgende Befunde:

^{+) Im allgemeinen bevorzugt man jetzt im Schrifttum die Bezeichnung "Agar" anstatt der früher gebräuchlichen und auch im DAB 6 aufgeführten "Agar-Agar".}

Ein Produkt, das unter Bedingungen, unter denen auch Handelsagar gewonnen wird, aus *Gelidium sesquipedale* var. *corneum* hergestellt wurde, enthält 1.53 % Schwefel, ein selbstgewonnener "Agar" aus *Euchama cottonii* 7.67 %.

Zudem wird die Aufstellung einer "Schwefelbilanz" noch dadurch problematisch, dass bei der technischen Herstellung und Reinigung des Agars in manchen Ländern eine Bleichung mit Cl_2 -Gas angeschlossen wird, mit der nach W. G. JONES und M. S. PEAT (30) eine partielle, nicht kontrollierte Hydrolyse des Schwefelsäureesters verbunden ist. An eine Hydrolyse kann auch im Zusammenhang mit dem Zusatz von anorganischen Säuren und Essigsäure bei der Herstellung des Agars gedacht werden.

Der für die nachfolgend beschriebenen Umsetzungen und Untersuchungen verwendete Agar enthält 4.57 % Schwefel. Dieser Schwefel liegt ausnahmslos in der Bindungsform SO_3H vor, wie der Vergleich des massanalytisch (5.77 % S) und gewichtsanalytisch (5.69 % S) ermittelten Gehaltes lehrt. (vgl. Carra-geen S. 3). Durch diese Feststellung wird zugleich das Vorhandensein anderer acider Gruppen ausgeschlossen. - Sämtliche Agarproben erwiesen sich als stickstofffrei, es kann deshalb die analytische Charakterisierung der "Agar-salze" wie die der Carrageenate (s. S. 7) durch das Atomverhältnis S zu basischem N erfolgen.

Bei den in Anlehnung an die Carrageenate dargestellten Salzen beträgt das Verhältnis S : bas. N innerhalb der analytischen Fehlergrenzen 1 : 1. Somit kann wie bei den Carrageenaten ein sorptiver Einschluss der Basen verneint werden (Tabelle 13).

Tabelle 13

Schwefel-Stickstoffbilanz der Salze der Agarsäure

Salz	S-Gehalt %	N-Gehalt %	S : bas. N
Diäthanolammonium-Agar	4.51	2.05	1 : 1.020
Atropin-Agar	3.47	1.49	1 : 0.983

Das Diäthanolammonium- und Atropinsalz des Agars werden in homogener Phase nach dem gleichen Verfahren wie beim Carrageen beschrieben (s.S. 5) dargestellt. Die Agarsäure setzt sich hierbei ebenfalls mit äquivalenten Mengen Base um.

Die Salze sind wie die entsprechenden Carrageenate in Wasser löslich und lassen sich mit organischen Lösungsmitteln nicht aus ihren Lösungen ausfällen. Sie haben Zersetzungspunkte, die in der gleichen Größenordnung wie bei den Carrageenaten liegen (Diäthanolammonium-Agar 188°C , Atropin-Agar 217°C).

Schon 0.5proz. Lösungen von Agar ergeben schnittfeste Gallerten. Diese Gallerten sind thixotrop, sie zeigen reversible isotherme Gel-Sol-Gel-Umwandlung. Bei der Bindung von Diäthanolamin bzw. Atropin an die Agarsäure hört überraschenderweise die Fähigkeit der Gallertbildung auf. Die Salze ergeben strukturviskose Lösungen, bei deren Untersuchung zum Unterschied von den Agar-Gallerten mehrere aufeinander folgende Viskositätsmessungen gleiche Resultate liefern (Tabelle 14).

Tabelle 14

Die Viskosität der 1proz. Agarsalzlösungen

Salz	Viskosität in cP
Diäthanolammonium-Agar	18.18
Atropin-Agar	12.85
Handelsagar (thixotrop)	38.70

Die Viskositäten der 1proz. Agarsalze sind ebenso wie die der Carrageenate von dem Molekulargewicht der gebundenen Base und somit auch von dem gebundenen Polysaccharidanteil abhängig: Mit steigendem Molekulargewicht der Base fällt die Viskosität ab.

Es wird in Hinblick auf die unterschiedliche Menge an aciden Gruppen, die das Ausgangsmaterial mitbringt, abgelehnt, eine Bilanz hinsichtlich der säuretragenden Gruppen, wie sie beim Carrageen aufgestellt wird, zu diskutieren. Bei dem Agar, der den Diäthanolammonium- und Atropinsalzen zu Grunde liegt, entfällt auf 4.5 Monosaccharideinheiten eine acide Gruppe, bei der oben erwähnten und untersuchten Alge *Gelidium sesquipedale* var. *corneum* dagegen auf etwa 7. Nicht zustimmen können wir auf Grund dieser Ergebnisse den Anschauungen von H. C. SELBY (42), dass Schwefel als Verunreinigung vorliegt, zumal auch andere Autoren (30, 43) das Vorkommen von Schwefel in Algen, denen Agar entstammt, beschreiben (*Gelidium coulteri* = 0.90 % S, *Gracilaria folifera* = 1.50 % S, *Endocladia muricata* 2.60 % S, *Furcellaria fastigiata* = 3.60 % S, *Gelidium cartilagineum* = 0.80 % S). ⁺⁾

⁺⁾ Diese Werte wurden uns freundlicher Weise von der Studiengesellschaft zur Erforschung von Meeresalgen e. V., Hamburg, zur Verfügung gestellt.

II. Polysaccharide mit Carboxylgruppen als Säurefunktion

II a. Die Alginsäure und ihre Derivate

Die Alginat sind Bestandteil vieler Phaeophyceen, besonders der Fucus- und Laminarienarten. Sie sind Salze der Alginsäuren, die von W. C. NELSON und L. M. CRETCHER (33 a) als Polymannuronsäuren erkannt wurden. Das Alginsäuremolekül ist linear aufgebaut. Verzweigungen sind nicht nachgewiesen worden. W. A. JEWFUSCHENKO (28) unterscheidet zwischen einer wasserlöslichen und einer wasserunlöslichen Alginsäure. Die wasserlösliche Alginsäure hat nur freie Carboxylgruppen. Der wasserunlöslichen Alginsäure, die er Algin nennt, schreibt er eine Strukturformel zu, bei der ein Teil der Carboxylgruppen durch Anhydridbindung miteinander verknüpft sind, andere Autoren (3, 4, 32) nehmen Laktanbindung an. - Die Alginsäuren können über die Alginat in einander übergeführt werden. -

Durch eine Ionenaustauschreaktion wird in Anlehnung an die bereits beschriebenen Verfahren (s. S. 3) aus Natriumalginat die wasserlösliche Alginsäure dargestellt. Sie enthält in 1 g 4.68 Millimol bzw. Milligramm-Äquivalente Wasserstoffionen. Da das Ausgangsmaterial, wie eigene Untersuchungen lehren, schwefel- und stickstofffrei ist, kann die Anwesenheit von Aminosäuren und sauren Schwefelsäureestern ausgeschlossen werden. Der acide Wasserstoff entstammt den Polymannuronsäuren.

In der Literatur wird ein p_K -Wert von 2,95 mitgeteilt (35). Vergleichende Messungen des p_H -Wertes der Lösungen von Kalt- und Heisscarrageensäure sowie Alginsäure, die hinsichtlich des aciden (massanalytisch erfassbaren) Wasserstoffs äquivalent sind, lassen einen beträchtlichen Unterschied erkennen (Carrageensäuren p_H -Wert 2,8, Alginsäure p_H -Wert 3,6).

Bei der Darstellung des Morphin-Alginates in heterogener Phase ist zu beobachten, dass die Aufnahme der festen Morphinbase, die im Überschuss zugesetzt wird, viel langsamer erfolgt als bei den Carrageensäuren. Erst nach 10stündiger Reaktionszeit resultiert ein Produkt, das hinsichtlich seines Stickstoffgehaltes äquivalent der vorgelegten Menge Alginsäure ist (Stöchiometrische Menge Stickstoff: 3.11 %, gefundene Menge Stickstoff: 3.04 %).

In diesem Zusammenhang sind die Beobachtungen von W. T. DOYLE (19), der das l-Amphetamin(Benzidrin)-Alginat herstellte, von Bedeutung. Nach DOYLE "genügt die stöchiometrische Menge an Alginsäure nicht immer, um das l-Amphetamin quantitativ zu neutralisieren, und es kann notwendig sein, weiter Alginsäure zuzusetzen bis die Lösung gegen Lackmus neutral ist."

Als Beispiel für die Alginat stickstoffhaltiger organischer Basen ist hier das Morphin-Alginat gewählt. Es weist einen Gehalt von 61.90 % Base auf, der Zersetzungspunkt beträgt 250°C. Das Morphin-Alginat ist genauso wie das Morphin-Carrageenat bei Zimmertemperatur nicht gut löslich, beim Erwärmen auf 50°C ergibt sich eine viskose Lösung.

Unter der Voraussetzung, dass auch bei der Alginsäure wie bei der unverzweigten Carrageensäure auf eine Monosaccharideinheit eine acide Gruppe trifft, ergibt sich ein Molekulargewicht von 176 und ein Gehalt an Base von 63,27 %. Das experimentell ermittelte Molekulargewicht (vgl. S. 18) 175 ist hiermit gut in Einklang zu bringen. Der Basengehalt des Morphinalginates differiert um etwa 2 % vom theoretischen Wert. Es hat demzufolge eine nahezu vollständige Neutralisation der Carboxylgruppen stattgefunden, ein Befund, der im Zusammenhang mit den bereits oben zitierten Arbeiten von DOYLE von Interesse ist.

C. Versuchsteil

I. Beschreibung der Ausgangssubstanzen

Das angewandte Drogenmaterial Carrageen wird auf Identität und Reinheit geprüft. Es entspricht den Anforderungen des DAB 6. Besonderer Wert wird auf die Abwesenheit von schwefliger Säure, die häufig zum Bleichen benutzt wird, und freier Säure gelegt.

Die verwendeten Agarproben genügen den Anforderungen des DAB 6.

Bei den Untersuchungen an Alginsäure wird Natriumalginat des Handels verwendet, das auf Reinheit und Identität geprüft wurde. Es ist schwefel- und stickstofffrei.

II. Bereitung der Carrageenine

Zur Darstellung des Kaltextraktes werden 20 g des fein pulverisierten Carrageens mit 1 l destillierten Wassers 24 Stunden bei 20°C extrahiert und die gelösten Schleimstoffe von dem Ungelösten abzentrifugiert. Ihre wässrige Lösung wird unter Rühren in ca. 2 l Äthylalkohol (96proz.) geschüttet. Dabei fallen die Schleimstoffe aus, die man mehrmals mit Alkohol wäscht. Lösen und Ausfällen werden erforderlichenfalls wiederholt.

Der Heissextrakt des Carrageens wird aus dem bei der Kaltextraktion verbleibenden Rückstand gewonnen. Die Extraktion erfolgt nach völliger Entfernung des kaltwasserlöslichen Anteils innerhalb einer Stunde auf dem siedenden Wasserbad. Die gelösten Schleimstoffe werden von den ungelösten Zellulosebestandteilen abzentrifugiert und wie beim Kaltextrakt beschrieben weiterverarbeitet.

III. Darstellung der Säuren durch Ionenaustausch

Die Säuren des Carrageens, des Agars und des Alginates werden in gleicher Weise dargestellt:

2 g Kalt- bzw. Heisscarrageenin (Agar, Alginat) werden in 200 ml Wasser gelöst. Diese Lösung lässt man durch eine Säule von 25 cm Länge und 4 cm Durchmesser laufen, die mit Amberlite IR-120 in der H-Form gefüllt ist. Es wird mit 300 ml Wasser nachgespült.

Die Säuren mit SO_3H -Gruppen als saurer Funktion müssen immer frisch bereitet werden, da sie sich durch Hydrolyse zersetzen.

IV. Analytisch-chemische und physikalisch-chemische Verfahren

1.) Schwefelbestimmung

Aufschluss mit Natriumperoxyd in der IKA-Universal-Bombe nach WURZ-SCHMITT. Das gebildete Sulfat wird als BaSO_4 gefällt und gewogen.

2.) Stickstoffbestimmung

Aufschluss und massanalytische Bestimmung des Ammoniaks in der üblichen Weise nach KJELDAHL (9).

3.) Papierchromatographie (6)

Hydrolyse: Salzsäurehydrolyse des Heisscarrageenins im zugeschmolzenen Reagenzglas bei 105°C während 12 Stunden.

Fliesszeit: Absteigend 12 Stunden.

Fliessmittel: n-Butanol/Eisessig/Wasser.

Entwickler: Anilinphtalat-Lösung.

4.) Viskositätsmessungen

Verwendetes Gerät: Visko-Waage nach HÖPPLER.

Um vergleichbare Verhältnisse zu haben, werden stets folgende Bedingungen eingehalten:

- 1) Messtemperatur: 20°C.
- 2) Kugel I mit dem Faktor $K = 0,01$.
- 3) Konzentration: 1 % bzw. 0.017 molar.
- 4) Die Messzeit T beträgt 15 sec, es wird das zur Messzeit T gehörende Auflagegewicht G bestimmt. Die Viskosität ergibt sich nach der Formel:

$$\eta = K \cdot G \cdot T \text{ cP.}$$

Die Fliessgeschwindigkeit lässt sich aus der Messzeit T nach folgender Formel berechnen:

$$V = \frac{S}{20 T} \frac{1}{1 - \frac{d^2}{D^2}} \text{ cm/sec.}$$

$$S = \text{Skalenwert} = 47.9, \quad \frac{1}{1 - \frac{d^2}{D^2}} = \text{Geschwindigkeitsfaktor} = 66.$$

Man erhält:

$$V = 10.538 \text{ cm/sec.}$$

5.) Papierelektrophorese

Verwendetes Gerät: Elphor-H Gerät nach W. GRASSMANN und K. HANNIG.

Papier: Schleicher und Schüll Nr. 2043b.

Elektrophoresezeit: 7 Stunden

Puffer: Boratpuffer p_H 8.

Die Anfärbung erfolgt mit einer Toluidinblaulösung nach W. AWE (1), die die SO_3H -Gruppen der Polysaccharidschwefelsäureester anfärbt.

6.) Messung der Oberflächenspannung

Die Messungen werden bei 20°C durchgeführt. Zur Anwendung gelangen 0.3-proz. Lösungen. Gemessen wird mit einem Stalagmometer, dessen Tropfzahl für Wasser bei 20°C 87.20 beträgt.

7.) p_H -Messungen

Verwendetes Gerät: p_H -Messgerät der Firma J. PUSL.

Die Messungen werden mit einer kombinierten Glaselektrode vorgenommen. Vor der Ablesung muss die Elektrode einige Minuten lang in die Gellösungen eintauchen.

V. Darstellung der Salze organischer Basen

Die Darstellung der Carrageenate, Agarsalze und Alginate findet in folgender Weise statt:

Die nach C. III. erhaltenen Säuren werden im Messkolben auf genau 500 ml aufgefüllt, 20 ml abgenommen und mit 0.1n NaOH titriert. Aus dem Verbrauch an 0.1n NaOH wird die für die Umsetzung der restlichen 480 ml Säure benötigte stöchiometrische Menge an Base berechnet. Die Umsetzung findet in homogener oder heterogener Phase statt. Auf Grund der Beobachtung empfiehlt sich die Verwendung eines geringen Basenüberschusses. Die erhaltene Salzlösung wird eingeeengt und dann im Vakuumtrockenschrank bei 35°C getrocknet. Nach der Reinigung werden die Salze durch Stickstoff- und Schwefelanalysen nach C. IV. charakterisiert.

Darstellung der Carrageenate organischer Basen

1. Triäthylammonium-Carrageenat

a.) Das Salz der Kaltcarrageensäure

- Titration: 20 ml Carrageensäure verbrauchen 2.62 ml 0.1n NaOH
Stöchiometrische Menge Triäthylamin = 0.64 g.
- Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 0.7 g Triäthylamin, gelöst in 30 ml Wasser, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.
- Reinigung: Perforation der wässrigen Carrageenatlösung während 4 Stunden mit Äther. Einengen und Trocknen im Vakuum und 3stündiges Digerieren des pulverisierten Triäthylammonium-Carrageenats mit Äthanol.
- Ausbeute: 2.3 g einer schwach gelblichen Substanz, die in durchscheinenden Schuppen anfällt.

b.) Das Salz der Heisscarrageensäure

- Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.13 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Triäthylamin = 0.51 g.
- Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 0.6 g Triäthylamin, gelöst in 30 ml Wasser, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.
- Reinigung: s. unter V. 1 a.
- Ausbeute: 1.9 g einer gelblichen, amorphen Substanz.

2. Diäthanolammonium-Carrageenat

a.) Das Salz der Kaltcarrageensäure

- Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.23 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Diäthanolamin = 0.6 g.

- Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 0.6 g Diäthanolamin, gelöst in 30 ml Wasser, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.
- Reinigung: Einengen und Trocknen im Vakuum, 5stündiges Digerieren des pulverisierten Diäthanolammonium-Carrageenates mit Äthanol.
- Ausbeute: 1.8 g einer schwach gelblichen, stark hygroskopischen Substanz.

b.) Das Salz der Heisscarrageensäure

- Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.14 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Diäthanolamin = 0.56 g.
- Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 0.6 g Diäthanolamin, gelöst in 30 ml Wasser, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.
- Reinigung: s. unter V. 2 a.
- Ausbeute: 1.5 g einer schwach gelblichen, stark hygroskopischen Substanz.

3. p-Phenetidin-Carrageenat

a.) Das Salz der Kaltcarrageensäure

- Titration: 20 ml der Carrageensäurelösung verbrauchen 2.51 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge p-Phenetidin = 0.83 g.
- Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 0.9 g p-Phenetidin, gelöst in 30 ml Äthanol, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.
- Reinigung: Entfernen des Alkohols im Vakuum, Perforation der wässrigen Carrageenatlösung während 5 Stunden mit Äther. Einengen und Trocknen im Vakuum, 3stündiges Digerieren des fein pulverisierten p-Phenetidin-Carrageenates mit Äther.

Ausbeute: 2.4 g eines braun-grünen Pulvers.

b.) Das Salz der Heisscarrageensäure

Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.18 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge p-Phenetidin = 0.71 g.

Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 0.8 g p-Phenetidin, gelöst in 30 ml Äthanol, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.

Reinigung: s. unter V. 3 a.

Ausbeute: 1.9 g eines braun-grünen Pulvers.

4. Carbaminoylcholin-Carrageenat

Die Carbaminoylcholinlösung wird aus Carbaminoylcholinchlorid (Doryl/MERCK) mit Hilfe des Anionenaustauschers Dowex 2 in der OH-Form hergestellt. Die Basenlösung wird unmittelbar der Carrageensäurelösung unter starkem Rühren zugesetzt.

a.) Das Salz der Kaltcarrageensäure

Titration: 20 ml der Carrageensäurelösung verbrauchen 2.5 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Carbaminoylcholin = 0.88 g.

Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 0.9 g Carbaminoylcholinchlorid, gelöst in Wasser, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.

Reinigung: Einengen und Trocknen, 5stündiges Digerieren des pulverisierten Carbaminoylcholin-Carrageenates mit Dioxan.

Ausbeute: 1.9 g einer gelblichen, hygroskopischen Substanz.

b.) Das Salz der Heisscarrageensäure

Titration: 20 ml der Carrageensäurelösung verbrauchen 2.15 ml 0.1n NaOH. Stöchiometrische Menge Carbaminoylcholin = 0.76 g.

Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 0.8 g Carbaminoylcholin, entsprechend 0.99 g Carbaminoylcholinchlorid, gelöst in Wasser, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.

Reinigung: s. unter V. 4a.

Ausbeute: 1.6 g einer gelblichen, hygroskopischen Substanz.

5. Atropin-Carrageenat

a.) Das Salz der Kaltcarrageensäure

Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.32 ml 0.1n NaOH. Stöchiometrische Menge Atropin = 1.61 g.

Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 1.7 g Atropin, gelöst in 50 ml Äthanol, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.

Reinigung: Entfernen des Alkohols im Vakuum. Perforation der wässrigen Carrageenatlösung während 4 Stunden mit Chloroform. Einengen und Trocknen im Vakuum, 3stündiges Digerieren des pulverisierten Atropin-Carrageenates mit Äthanol.

Ausbeute: 3.1 g einer schwach gelblichen, schellackähnlichen Substanz.

b.) Das Salz der Heisscarrageensäure

Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.12 ml 0.1n NaOH. Stöchiometrische Menge Atropin = 1.47 g.

Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 1.55 g Atropin, gelöst in 40 ml Äthanol, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.

Reinigung: s. unter V. 5 a.

Ausbeute: 2.7 g einer schwach gelblichen, schellackähnlichen Substanz.

6. Codein-Carrageenat

a.) Das Salz der Kaltcarrageensäure

Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.43 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Codein = 1.74 g.

Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 1.8 g Codein, gelöst in 50 ml Äthanol, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.

Reinigung: Entfernen des Alkohols im Vakuum. Perforation der wässrigen Carrageenatlösung während 5 Stunden mit Äther. Einengen und Trocknen im Vakuum und 2stündiges Digerieren des pulverisierten Codein-Carrageenates mit Äther.

Ausbeute: 2.9 g einer gelblichen, schuppenförmigen, dem Atropin ähnlichen Substanz.

b.) Das Salz der Heisscarrageensäure

Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.11 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Codein = 1.5 g.

Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 1.6 g Codein, gelöst in 50 ml Äthanol, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.

Reinigung: s. unter V. 6 a.

Ausbeute: 2.6 g einer gelblichen, schuppenförmigen, dem Atropin ähnlichen Substanz.

7. Morphin-Carrageenat

a.) Das Salz der Kaltcarrageensäure

Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.31 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Morphin = 1.62 g.

Umsetzung: von 1.7 g festen Morphins mit der wässrigen Carrageensäurelösung während 4 Stunden unter kräftigem Schütteln.

Reinigung: Abtrennung der nicht umgesetzten Base durch Filtration. Einengen und Trocknen im Vakuum, 2stündiges Digerieren des getrockneten Morphin-Carrageenates mit Äthanol.

Ausbeute: 2.9 g einer grau-gelblichen, schellackähnlichen Substanz.

b.) Das Salz der Heisscarrageensäure

Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.09 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Morphin = 1.5 g.

Umsetzung: von 1.5 g festen Morphins mit der wässrigen Carrageensäurelösung während 6 Stunden unter kräftigem Schütteln.

Reinigung: s. unter V. 7 a.

Ausbeute: 2.6 g einer grau-gelblichen, schellackähnlichen Substanz.

8. Chinin-Carrageenat

a.) Das Salz der Kaltcarrageensäure

Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.44 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Chinin = 1.9 g.

Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 1.95 g Chinin, gelöst in 50 ml Äthanol, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.

Reinigung: Abtrennung des Chinin-Carrageenates, das in dem Reaktionsgemisch in flockiger Form ausfällt, durch Filtration und gründliches Auswaschen mit Äthanol. 2stündiges Digerieren des getrockneten und pulverisierten Chinin-Carrageenates mit Äthanol.

Ausbeute: 3.0 g einer grau-gelben, schuppenförmigen Substanz.

b.) Das Salz der Heisscarrageensäure

Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.16 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Chinin = 1.68 g.

Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 1.75 g Chinin, gelöst in 50 ml Äthanol, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.

Reinigung: s. unter V. 8 a.

Ausbeute: 2.9 g einer grau-gelben, schuppenförmigen Substanz.

9. Strychnin-Carrageenat

a.) Das Salz der Kaltcarrageensäure

Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.65 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Strychnin = 2.12 g.

Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 2.2 g Strychnin, gelöst in Chloroform, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren. Es findet hierbei Emulsionsbildung statt.

Reinigung: Abtrennung des Strychnin-Carrageenates, das in dem Reaktionsgemisch ausserordentlich fein verteilt ausfällt, mittels einer Filternutsche und Auswaschen mit Chloroform. 2stündiges Digerieren des getrockneten und pulverisierten Strychnin-Carrageenates mit Chloroform.

Ausbeute: 3.6 g eines weiss-gelblichen Pulvers.

b.) Das Salz der Heisscarrageensäure

- Titration: 20 ml Carrageensäurelösung verbrauchen 2.09 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Strychnin = 1.67 g.
- Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 1.75 g Strychnin, gelöst in 30 ml Chloroform, zur Carrageensäurelösung unter starkem Rühren.
- Reinigung: s. unter V. 9a.
- Ausbeute: 3.05 g eines weiss-gelblichen Pulvers.

Darstellung der Agarsalze organischer Basen

1. Diäthanolammonium-Agar

- Titration: 20 ml Agarsäurelösung verbrauchen 1.4 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Diäthanolamin = 0.35 g.
- Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 0.4 g Diäthanolamin, gelöst in 30 ml Wasser, zur Agarsäurelösung unter starkem Rühren.
- Reinigung: s. unter V. 2.
- Ausbeute: 2.1 g einer gelblichen, hygroscopischen Substanz.

2. Atropin-Agar

- Titration: 20 ml Agarsäurelösung verbrauchen 1.5 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Atropin = 1.04 g.
- Umsetzung: Allmähliches Zusetzen von 1.1 g Atropin, gelöst in 40 ml Äthanol, zur Agarsäurelösung unter starkem Rühren.
- Reinigung: s. unter V. 5.
- Ausbeute: 2.9 g einer schwach gelblichen Substanz.

Darstellung der Alginat organischer Basen

1. Morphin-Alginat

Titration: 20 ml Alginsäurelösung verbrauchen 1.86 ml 0.1n NaOH.
Stöchiometrische Menge Morphin = 1.28 g.

Umsetzung: von 1.35 g festen Morphins mit der wässrigen Alginsäure-
lösung während 10 Stunden unter kräftigem Schütteln.

Reinigung: s. unter V. 7.

Ausbeute: 2.8 g einer grau-gelblichen Substanz.

D. Literaturverzeichnis

- 1) AWE, W.
Arzneimittel-Forsch. 7, 715 (1957)
- 2) BAMANN, E. und E. ULLMANN
Chemische Untersuchungen von Arzneigemischen, Arzneispezialitäten
und Giftstoffen, Stuttgart 1960
- 3) BARRY, V. C. und T. DILLON
Sci. Proc. Roy. Dublin Soc. 21, 285 (1936)
- 4) BARRY, V. C. und T. DILLON
Chem. and Ind. 167, (1944)
- 5) BAYLEY, S. T.
Biochim. biophysica Acta 17, 194 (1955)
- 6) BECKER, E. und M. EDER
Zeitschr. f. Lebensmittel-Unters. u. -Forschg. 104, 187 (1956)
- 7) BERGSTRÖM, S.
Naturwissenschaften 23, 706 (1935)
- 8) BERINGER, K. CH.
Dissertation, Universität München, 1958
- 9) BEYTHIEN, A., W. DIMAIR
Laboratoriumsbuch für den Lebensmittelchemiker, Dresden u. Leipzig
1957
- 10) BOLLIGER, R. und K. MÜNZEL
Pharm. Acta Helv. 33, 141 (1958)
- 11) BOLLIGER, R. und K. MÜNZEL
Pharm. Acta Helv. 33, 225 (1958)
- 12) BÜCHI, J.
Arzneimittel-Forsch. 2, 117 (1960)
- 13) BUCHANAN, J., E. E. PERCIVAL und E. G. V. PERCIVAL
J. chem. Soc. (London) 51, (1943)
- 14) BUNGENBERG DE JONG, H. G. und O. S. GWAN
Kolloidchem.-Beih. 29, 436 (1929)

- 15) COOK, W.H., R. C. ROSE und J. R. COLVIN
Biochim. biophys. Acta (Amsterdam) 7, 595 (1921)
- 16) DEWAR, E. T. und E. G. V. PERCIVAL
Nature (London) 156, 633 (1945)
- 17) DEWAR, E. T. und E. G. V. PERCIVAL
J. chem. Soc. 323, 1622 (1947)
- 18) DILLON, T. und P. O'COLLA
Biochim. biophys. Acta 8, 595 (1952)
- 19) DOYLE, W. T.
DBP 1 043 587
- 20) ELSNER, H.
DRP 667 279
- 21) ELSNER, H., W. BROSER und E. BÜRCEL
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 246, 244 (1937)
- 22) ELSNER, H.
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 252, 196 (1938)
- 23) GUTBIER, A. und J. HUBER
Kolloid-Z. 30, 20 (1922)
- 24) HAAS, P.
Biochem. J. 15, 469 (1921)
- 25) HAAS, P. und B. RUSSEL-WELLS
Biochem. J. 23, 425 (1929)
- 26) HARWOOD, F. C.
J. chem. Soc. 123, 2254 (1923)
- 27) HOUCK, J. C., R. K. MORRIS und E. J. LAZARO
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 96, 528 (1957)
- 28) JEWITUSCHENKO, W. A.
J. appl. Chem. 26, 321 (1953)
- 29) JOHNSTON, R. und E. G. V. PERCIVAL
J. chem. Soc. 408, 1994 (1950)
- 30) JONES, W. G. und M. S. PEAT
J. chem. Soc. 225, (1942)

- 31) MASSON, C. R. und D. A. J. GORING
Can. J. chem. 33, 895 (1955)
- 32) MIWA, T.
J. chem. Soc. (Japan) 51, 738 (1930)
- 33) MÜNZEL, K., J. BÜCHI und O. E. SCHULTZ
Galenisches Praktikum, Stuttgart 1959
- 33 a) NELSON, W. L. und L. H. CRETCHER
J. Amer. chem. Soc. 52, 2130 (1930)
- 34) O'NEILL, A. N.
J. Amer. chem. Soc. 77, 6324 (1955)
- 35) SARIC, S. P. und R. K. SCHOFIELD
Proc. Roy. Soc. (London) A185, 431 (1946)
- 36) SCHMID, O. J.
Botanica Marina I, 95 (1960)
- 37) SCHMID, E.
Organische Chemie, Bd. II, Braunschweig 1911
- 38) SMITH, D. B. und W. H. COOK
Arch. Biochim. Biophysics 45, 252 (1953)
- 39) SMITH, D. B., W. H. COOK und J. L. NEAL
Arch. Biochim. Biophysics 53, 192 (1954)
- 40) SPRINGER, R. und K. Ch. BERINGER
Deutsche Apotheker-Zeitung 98, 653 (1958)
- 41) SELBY, H. C.
Natural Plant Hydrocolloids, S. 16, 1954
- 42) RABALD, E. und H. DIMROTH
DBP 884 195
- 43) TSENG, C. K.
Science 101, 597 (1945)

Lebenslauf

Am 17. September 1931 wurde ich, Luise Middendorf, als Tochter des Kaufmanns Heinrich Middendorf und seiner Ehefrau Luise, geb. Baum, in Recklinghausen geboren.

Nach Besuch der Volksschule in Selm/Westf. (1938-1942) war ich drei Jahre Schülerin der Staatlichen Oberschule in Lüdinghausen/Westf. und besuchte dann von 1946-1952 das Neusprachliche Mädchengymnasium in Lünen/Westf..

Am 13. Februar 1952 bestand ich dort das Abitur.

Vom Sommersemester 1952 bis zum Wintersemester 1954/55 studierte ich Chemie an der Universität Münster. Im Sommersemester 1955 setzte ich an der Universität München das Studium in der Fachrichtung Lebensmittelchemie fort. Am 3. Mai 1956 legte ich in München die Vorprüfung, am 23. Mai 1958 die Hauptprüfung für Lebensmittelchemiker ab.

Von Januar 1958 bis Juli 1960 beschäftigte ich mich unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Rudolf Springer mit der Durchführung vorliegender Dissertationsarbeit. Seit November 1959 habe ich am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie die Dienste eines wissenschaftlichen Assistenten versehen.

